



平成18年度
抗菌性物質薬剤耐性菌評価情報整備委託事業
報告

財団法人 畜産生物科学安全研究所



事業概要

1. 薬剤耐性菌の発生評価

鶏、牛及び豚へのフルオロキノロン(FQ)剤の投与試験等により、FQ剤の投与とFQ耐性菌(カンピロバクター・大腸菌・腸球菌)の出現、伝達及び消失との関係を調査する。

2. 薬剤耐性菌の暴露評価

家畜で発生したFQ耐性カンピロバクターがヒトに摂取されるまでの経路において、FQ耐性株と感受性株との間で生存性等に違いがあるかを調査する。



1. 薬剤耐性菌の発生評価

(目的)

複数のフルオロキノロン(FQ)剤を、承認された用法・用量に従い対象動物に投与した際、FQ耐性カンピロバクターの発生等に被験物質間で違いがあるかを調べる。



薬剤耐性菌の発生評価

FQ剤投与試験 試験群の構成

| 動物 | 投与したFQ剤 | 投与期間 | 投与経路 | 投与量 |
|----|-----------|------|-------|----------|
| 鶏 | エンロフロキサシン | 3日間 | 飲水添加 | 50ppm |
| | オフロキサシン | 3日間 | 飲水添加 | 50ppm |
| 牛 | エンロフロキサシン | 3日間 | 頸部皮下 | 2.5mg/kg |
| | ダノフロキサシン | 3日間 | 筋肉内 | 2.5mg/kg |
| 豚 | エンロフロキサシン | 5日間 | 頸部筋肉内 | 5mg/kg |
| | ノルフロキサシン | 5日間 | 飼料添加 | 5mg/kg |



薬剤耐性菌の発生評価

FQ剤投与による動物腸管内カンピロバクターの耐性化

| 動物 (飼育形態) | 使用したFQ剤の種類 | 耐性菌出現日* (FQ投与後) | 耐性菌出現頻度** (耐性菌出現個体/供試個体) |
|--------------|------------|--------------------|-----------------------------|
| 鶏 (単飼) | エンロフロキサシン | 2日目 | 5/8 |
| | オフロキサシン | 4日目 | 1/8 |
| 牛 (単飼) | エンロフロキサシン | 4日目 | 3/4 |
| | ダノフロキサシン | 4日目 | 3/4 |
| 豚 (群飼) | エンロフロキサシン | 4日目 | 5/5 |
| | ノルフロキサシン | 3日目 | 5/5 |

* 初めてFQ耐性菌が出現したFQ剤投与後の日数

** 試験期間内にFQ耐性菌が出現した個体の割合

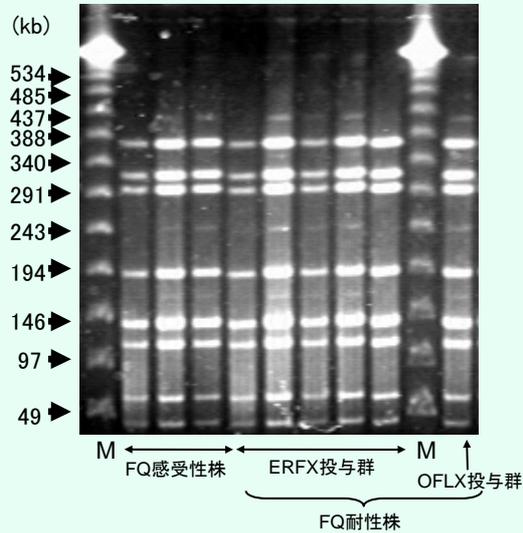


薬剤耐性菌の発生評価

鶏由来 *C. jejuni* のFQに対する薬剤感受性及び *gyrA* 遺伝子の変異

| 菌 株 | MIC (mg/L) | | | <i>gyrA</i> 遺伝子変異 (Thr ⁸⁶) |
|---------|------------|-------|--------------------|---|
| | ERFX | OFLX | CPF ^X * | |
| 投与菌 | ≤0.25 | ≤0.25 | ≤0.25 | — |
| 分離菌 | | | | |
| 感受性株 | ≤0.25 | ≤0.25 | ≤0.25 | — |
| 耐性株 | | | | |
| ERFX投与群 | 8 | 16-32 | 16-32 | ACA→ATA |
| OFLX投与群 | 8 | 32 | 32 | ACA→ATA |

*シプロフロキサシン:ERFXの代謝物



鶏由来FQ感受性及び耐性カンピロバクターのPFGEプロファイル(Sma I)

FQ耐性菌水平伝播試験 試験群の構成

| 動物 | エンロフロキサシン 投与の有無 | 耐性菌の保有 | | 投与期間 |
|----|--------------------|--------|-------|------|
| | | 保有個体 | 非保有個体 | |
| 鶏 | 無 | 1羽 | 5羽 | — |
| | 有 | 1羽 | 5羽 | 3日間 |
| 牛 | 無 | 2頭 | 6頭 | — |
| | 有 | 2頭 | 6頭 | 3日間 |
| 豚 | 無 | 1頭 | 5頭 | — |
| | 有 | 1頭 | 5頭 | 5日間 |



薬剤耐性菌の発生評価

動物間におけるFQ耐性カンピロバクターの水平伝播

| 動物 | エンロフロキサシン 投与の有無 | 伝播日* | 伝播頻度** |
|----|--------------------|------|--------|
| 鶏 | 無 | 4日目 | 4/5 |
| | 有 | 4日目 | 5/5 |
| 牛 | 無 | 3日目 | 3/6 |
| | 有 | 2日目 | 3/6 |
| 豚 | 無 | 1日目 | 5/5 |
| | 有 | 1日目 | 5/5 |

* 同居後初めて投与前は非保有だった個体に耐性菌が出現した日

** 試験期間内にFQ耐性菌の出現が認められた、投与前にFQ耐性菌非保有であった個体の割合



薬剤耐性菌の発生評価

(まとめ)

○鶏、牛及び豚のいずれの対象動物に対しても、FQ剤を投与した際、耐性化した腸管内カンピロバクターが出現した。一方、大腸菌及び腸球菌については、投薬試験中にFQに対する耐性菌は出現しなかった。

－牛及び豚においてはFQ剤の成分による耐性菌出現頻度の違いはほとんど認められなかった。

－鶏及び牛から分離された耐性株のgyrA遺伝子を調べたところ、キノロン耐性決定領域の86位のスレオニンがイソロイシンに変異していた(ACA→ATA)。

○FQ耐性カンピロバクター保有個体に非保有個体を同居させたところ、鶏、牛及び豚のいずれの動物においても、耐性菌の伝播が認められた。



薬剤耐性菌の暴露評価

(目的)

FQ耐性及び感受性カンピロバクターについて、種々の処理に対する生存性及び増殖性の違いを比較する。



薬剤耐性菌の暴露評価

塩素系消毒剤*に対する*C. jejuni*の生存性

| 時間 | FQ感受性株 | | | FQ耐性株 | | |
|-----|--------|-----|------|-------|------|------|
| | C2 | C39 | C164 | C101 | C142 | C167 |
| 30秒 | — | — | — | — | — | — |
| 1分 | — | — | — | — | — | — |
| 2分 | — | — | — | — | — | — |

*: 塩素水を用いて、100ppm(pH3~4)で処理

—: 検出せず

鶏肉中カンピロバクターの生存性試験

| 保存温度 | 菌株 | 菌数 (LOG[CFU]/g検体) | |
|------|-------|-------------------|-------|
| | | 保存開始時 | 保存7日目 |
| 4°C | FQ感受性 | 4.97 | 4.27 |
| | FQ耐性 | 4.75 | 4.21 |
| 10°C | FQ感受性 | 4.89 | 4.37 |
| | FQ耐性 | 4.79 | 4.33 |
| 25°C | FQ感受性 | 4.45 | 4.20 |
| | FQ耐性 | 4.60 | 4.33 |

(まとめ)

○カンピロバクターを接種した鶏手羽先について、塩素系消毒剤で処理したところ、FQ感受性株と耐性株の生存性に差は認められなかった。

○FQ感受性及び耐性カンピロバクターを接種した検体を種々の温度で保存したところ、菌の増殖性及び生存性に違いは認められなかった。



食中毒予防対策を確実に実施することで、FQ耐性カンピロバクターに対するリスクが減少するものと考えられる。